

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Institut de thérapeutique

FACULTÉ DE MÉDECINE
Dir.: Prof. Ed. Frommel

De l'effet de l'ester nitré de choline sur la pupille du lapin

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine

par

Canute Olive BERNARD

de KINGSTON (Jamaïque)

Thèse N° 2408

Editions Médecine et Hygiène
GENÈVE
1957

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Institut de thérapeutique

FACULTÉ DE MÉDECINE
Dir. : Prof. Ed. Frommel

De l'effet de l'ester nitré de choline sur la pupille du lapin

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine

par

Canute Olive BERNARD

de KINGSTON (Jamaïque)

Thèse N° 2408



Editions Médecine et Hygiène
GENÈVE
1957

La Faculté de médecine, sur le préavis de Monsieur le professeur E. Frommel, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 30 novembre 1956.

Le doyen :

Eric MARTIN

Thèse N° 2408

Nos remerciements vont à Monsieur le professeur Edouard Frommel, directeur de l'Institut de Thérapeutique expérimentale de la Faculté de médecine de Genève, pour nous avoir permis d'utiliser son matériel expérimental, à Monsieur le Dr C. Radouco, chef de travaux de l'Institut de Thérapeutique.

A MA MERE.

Introduction

La pupille est un organe facile à observer chez l'homme quant à ses réactions aux médiateurs de la cholinergie et de l'adrénergisme. La technique de cette observation se heurte cependant à quelques difficultés chez l'animal, l'expérimentateur arrive cependant à les surmonter après un certain temps d'entraînement.

Le myosis est malheureusement de très courte durée si l'on injecte à l'animal l'acétylcholine, médiateur physiologique de la vagotonie. Cette courte durée d'effet s'explique par la rapide hydrolyse de la substance hormonofide par les cholinestérases. Ce myosis ne se manifeste qu'aux doses subtoxiques d'acétylcholine.

Si par contre nous substituons à l'acétylcholine l'ester nitré de choline dont l'effet cholinergique est durable, l'observation de la pupille devient plus aisée et ne présente plus de réelles difficultés.

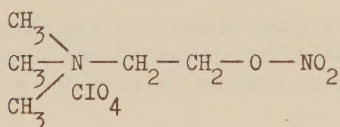
C'est à l'étude de l'ester nitré de choline que nous vouons ce travail. Nous ne rechercherons pas l'effet myotique qui suit une injection et qui a été décrit par Frommel et ses collaborateurs, mais bien celui qui se produit après l'instillation conjonctivale de Nitrocholine pour nous assurer d'une part si la conjonctive est perméable à ce médicament et de l'autre si une telle technique pourrait s'appliquer en clinique au cours du traitement des glaucomes tel qu'il se pratique pour l'Esérine, la Pilocarpine et le diisopropyl-fluorophosphate.

Il y aurait en effet un grand intérêt à employer une substance dont l'effet pharmacodynamique se calque sur celui de l'acétylcholine médiateur physiologique et non plus de substances pitérogènes à l'organisme.

RAPPEL PHARMACOLOGIQUE DE L'ACTION DE L'ESTER NITRE DE CHOLINE (1)

I L'ester nitré de la choline est un corps que Dale a décrit le premier, en 1914 (2), puis ce furent les travaux de Hunt et de Rentshaw (3), ceux de Kahane et Levy (4) et enfin les études de Barrière (5), de Fourneau et des Bovet (6) qui en fixèrent la pharmacodynamie. Pour ancienne que soit cette synthèse, elle nous a paru assez intéressante pour en reprendre une étude détaillée.

Propriétés physico-chimiques de l'ester nitré
de choline



La nitrocholine (perchlorate) se présente sous la forme de sel cristallin en feuilles brillantes mono- et tricliniques: P.M.248; P.F.185-186°. Elle est soluble dans l'eau à 0,8% à 20° C, insoluble dans l'éther, les huiles et les carbowax, fort peu dans l'alcool. Le groupe nitré représente le 19%.

II Toxicologie de la nitrocholine

La toxicologie de cet ester a été explorée sur la souris blanche adulte de 18-20 g. La dose létale 50% en injection sous-cutanée s'inscrit à 30 mg/kg, celle administrée par voie intra-péritonéale à 20 mg/kg, enfin celle per os à 80 mg/kg. La mort s'accompagne des mêmes manifestations agoniques que celles que l'on observe chez la souris injectée de chlorure d'acétylcholine, à cette différence près qu'elle peut survenir beaucoup plus tardivement et que l'animal présente moins de myoclonies agoniques. Les yeux deviennent vitreux, se recouvrent d'une sécrétion lactescente et la mort peut survenir à la suite de convulsions.

Le cobaye est plus sensible que la souris et peut mourir à 2-4 mg/kg s.c.

Le lapin supporte la nitrocholine en s.c. à 5 mg/kg (2 lapins) et meurt à partir de 7,5 mg/kg (3 lapins).

Le chien peut tomber dans un état alarmant après l'administration orale de 15 mg/kg. Cette toxicologie est cependant fort

éloignée de celle de la carbaminoylcholine (Doryl) qui tue le cobaye à 500 γ /kg en s.c. (6,7).

III Rapport de la Nitrocholine avec les cholinestérases.

L'influence de la Nitrocholine sur les cholinestérases sérique et globulaire montre que cet ester est pratiquement non hydrolysable, fait qu'avaient signalé avant Frommel et ses collaborateurs, Kahane et Levy (4).

Son effet sur la pression artérielle montre que cet ester est fort actif soit chez le chien, soit chez le lapin en injections intra-veineuses, sous-cutanées, soit encore administré per os ou sous forme de suppositoire. Il l'est également chez l'homme (7).

Nous citons ici les résultats publiés par Frommel et ses collaborateurs à titre d'exemples.

IV Action de la nitrocholine sur la pression artérielle

A. Expérience sur le chien.

16 chiens, en narcose à la chloralose et d'un poids variant de 6 à 21 kg ont été utilisés pour les essais sanglants (inscription graphique de la pression carotidienne au kymographe de Ludwig). Une chienne préparée par la technique du manchon carotidien (carotide extériorisée) a servi à trois expériences qui furent faites sans narcose et sans contention, avec détermination de la pression maximale par la méthode palpatoire.

Effets de l'injection intraveineuse. - Les essais par injection intraveineuse ont été faits pour comparer la puissance de l'ester nitré de la choline comparativement à celle du chlorure d'acétylcholine. Les doses injectées ont été multiples, d'une fraction de γ /kg à plusieurs γ /kg. Ces expériences montrent que la nitrocholine a la même puissance hypotensive que l'acétylcholine, sauf pour les doses les plus faibles où l'effet est nettement moindre, mais l'action en est beaucoup plus prolongée.

L'injection de 2 mg/kg d'atropine i.v. supprime tout effet dépressif.

Effets des injections sous-cutanées. - Les chiens furent injectés de doses variant de 0,5 mg/kg à 1 mg/kg. Nous ne pouvons pas donner en détail les protocoles de chacune de ces expériences, dont les résultats varient quelque peu d'un chien à l'autre selon la sensibilité cholinergique de l'animal.

A la dose de 0,5 mg/kg et d'une façon générale, la tension carotidienne tombe en 1 à 2 minutes à -15%; à 5 minutes elle s'abaisse à -17%, à 10 minutes à -20% et à 35 minutes à -35%, puis la pression remonte graduellement à son chiffre primitif en 3 heures environ. Le pouls se ralentit parfois et peut passer de 120 à 66 au moment de l'hypotension myximum.

A la dose de 1 mg/kg, l'effet hypotenseur est beaucoup plus brutal et la tension peut s'abaisser à -50% en quelques minutes pour atteindre -65% en 30 minutes. Puis la pression remonte graduellement pour arriver en 3 heures à un chiffre voisin de -30%. La bradycardie est du même ordre, en général, que celle que nous avons signalée pour l'injection de 0,5 mg/kg s.c.

L'injection d'atropine (2 mg/kg i.v.) encore ici fait remonter immédiatement la pression à son chiffre primitif et rend l'animal insensible à une nouvelle injection de l'ester nitré de choline.

Effets de l'administration per os (sondage gastrique).- Les doses ont été de 1-5-10 mg/kg. L'effet de 1 mg/kg est incertain chez le chien en narcose, alors que la dose de 5 ou 10 mg/kg donne des résultats presque superposables. Après un temps de latence qui peut être assez considérable, la pression s'abaisse et peut atteindre -70% en 4 heures. L'hypotension persiste plus de 7 heures (fin des expériences).

Un essai sur le chien à carotide extériorisée nous a montré que cet animal était sensible à 1 mg/kg de nitrocholine administrée par voie gastrique. La courbe en chiffres absolus de son hypotension se lit à la figure 3. Cette hypotension, qui dure plus de 8 heures, atteint son point maximum entre 2 et 3 heures (-32%). On ne note ni bradycardie ni défécation, mais une sialorrhée légère qui dure jusqu'à la troisième heure. Le meilleur effet de la nitrocholine dans ces conditions tient vraisemblablement au fait que l'animal restait éveillé et n'était pas traumatisé.

Effets par administration rectale (suppositoires). - Les suppositoires contenaient la dose correspondant à 5 et 10 mg/kg.

Un chien expérimenté par le procédé sanglant et traité par la dose de 5 mg/kg, a fait une hypotension lentement progressive dont le maximum se plaçait vers deux heures (-13%). Les chiens auxquels on administra 10 mg/kg firent, eux aussi, une hypotension progressive et parfois assez tardive dont le palier le plus bas s'inscrivait entre la première et la seconde heure (-25%). Sur l'animal à carotide extériorisée et non-narcotisé, on observa une hypotension plus considérable

dont le lecteur retrouvera le détail à la fig. 3. Cette hypotension est très durable (plus de 8 heures).

B. Expériences faites sur le lapin.

Le lapin n'est pas l'animal de choix pour l'étude pressive. Nous nous sommes servis de la technique sanglante (canule intracarotidienne ou intrafémorale, kymographe de Fleisch).

L'injection intraveineuse de nitrocholine faite avec des doses progressives nous montre que l'ester nitré de la choline est de 4 à 10 fois moins actif que ne l'est le chlorure d'acétylcholine, mais son effet plus prolongé à hypotension égale.

En administration orale, la nitrocholine à la dose de 12 mg/kg fait une hypotension durable qui atteint -40% entre la 45e et la 90e minute, puis la pression remonte lentement pour se stabiliser aux environs de -10% entre la 3e et la 4e heure.

Administré par suppositoire, l'ester nitré de choline donne des résultats semblables chez deux lapins qui reçurent respectivement 6 à 12 mg/kg. La chute pressive est identique à celle que l'on note après l'administration de 12 mg/kg per os. La similitude d'effet de dose allant du simple au double, peut s'expliquer par le fait que le lapin garde mal de suppositoire et cherche à l'expulser. Un lapin qui reçut un suppositoire calculé à 12 mg/kg, cependant, fit une hypotension beaucoup plus considérable et qui persistait encore à la 6e heure, à -55% à la fin de l'expérience.

Tous nos lapins salivèrent abondamment, si bien que nous dûmes installer un appareillage de pompage buccal pour ne pas fausser le résultat de nos expériences. Certains déféquèrent également.

L'ensemble de ces observations nous montre donc que l'ester nitré de la choline est capable de provoquer une forte hypotension dont la durée peut excéder plusieurs heures. D'autre part, nos expériences en administration orale et rectale mettent en relief le fait capital que l'absorption digestive de la nitrocholine est excellente. Le temps de cette résorption est assez variable, tout spécialement chez le chien, mais n'excède pas l'heure.

La longue durée de l'effet hypotensif doit être mis en relation avec deux faits: d'une part la résistance de la nitrocholine aux cholinestérases et sa stabilité propre qui rend sa saponification difficile, d'autre part sa faible solubilité.

V Action de l'atropine sur l'hypotension due à
la nitrocholine et effet muscarinique et nicotinique
de cet ester

Lorsqu'on atropinise l'animal au cours de la chute tensi-
sive due à la nitrocholine, on assiste à la remontée immédiate de la
pression. Cet effet est observé chez le chien chloralosé comme chez le
lapin non narcotisé.

Cette même neutralisation se lit sur les bandes élec-
trocardiographiques pour ce qui concerne la bradycardie (électrocardio-
graphe Sandborn, D2).

L'atropine neutralise donc l'action hypotensive et
bradycardisante de la nitrocholine, comme elle le fait pour celle pro-
duite par le chlorure d'acétylcholine.

Ces expériences nous permettent de conclure que:

1. L'ester nitré de la choline résiste beaucoup mieux que le chlorure
d'acétylcholine aux cholinestérases sérique et globulaire.
2. Sa toxicité accrue est fonction de ce métabolisme différentiel qui
conditionne la stabilité de cet ester dans l'organisme et qui contraste
avec l'hydrolyse très rapide de l'acétylcholine.
3. En injection i.v. chez le lapin et le chien, cet ester exerce un
effet d'hypotension artérielle moins prononcé que l'acétylcholine mais
plus durable; en injection s.c., en administration orale ou sous forme
de suppositoire, l'hypotension produite par la nitrocholine est de très
longue durée (plusieurs heures selon la posologie).
4. Cette hypotension est neutralisée par l'atropine.

Or l'effet hypotenseur peut concourir au traitement du
glaucome, puisque précisément cette affection se caractérise par une
hypertension des milieux intérieurs de l'oeil.

Franceschetti et Frommel (8) ont montré que les mem-
branes internes de l'oeil sont perméables aux cholines et tout particu-
lièrement au manganochlorure d'acétylcholine lorsque ces cholines sont
injectées.

Si réellement cette même pénétration se retrouve au
niveau des conjonctives pour la nitrocholine, le problème thérapeutique
du glaucome serait grandement simplifié et pourrait concurrencer le
traitement par l'Esérine, la Pilocarpine et le diiodopropylfluorophos-
phate. Cette thérapeutique serait même capable, théoriquement du moins,

de surclasser ces médicaments courants si l'on songe que la nitrocholine se rapproche de la substance hormoïde, l'acétylcholine et que tout traitement physiologique l'emporte pour sa sécurité sur les traitements par des substances étrangères à l'organisme.

VI

Méthodologie de nos expériences

Nous instillons dans le cul de sac conjonctival de l'oeil du lapin quatre gouttes d'une solution de titre variable de nitrocholine. Nous observons au compas gradué les réactions de la pupille de l'oeil instillé alors que l'autre sert de témoin.

Pour nous rendre compte de la puissance de la nitrocholine nous faisons des épreuves similaires en instillant dans le cul de sac de l'autre oeil du lapin des solutions d'ésérine dont l'effet est connu des cliniciens mais qui demandait un étalonnage chez l'animal soit pour la variable de la dilatation pupillaire, soit pour la durée de cet effet.

Enfin connaissant l'effet des "mouillants" sur la résorption nous refaisons les mêmes expériences en additionnant nos solutions de nitrocholine de laurylsulfonate de soude à concentration variable.

VII

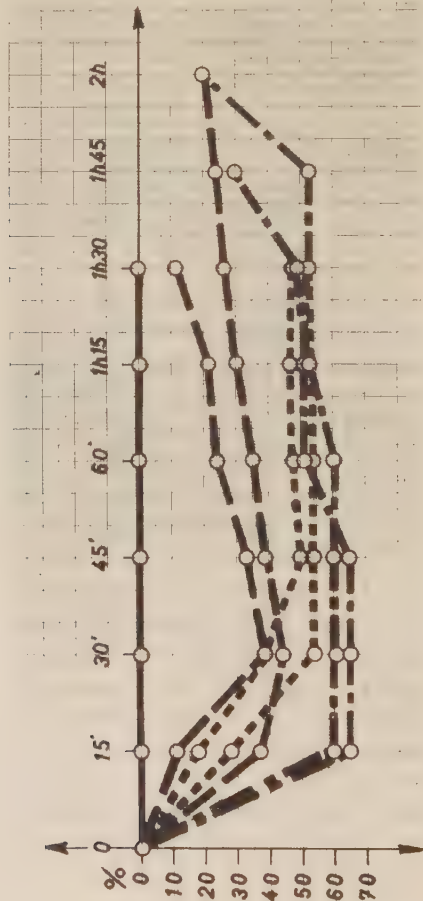
Résultats des expériences

Nous transcrivons le résultat de nos expériences sur le diagramme ci-contre.

Chaque courbe est la moyenne de 5 expériences à l'exception des essais faits avec une solution de 1% d'Esérine qui s'est révélée toxique pour l'animal puisque sur deux animaux expérimentés, un mourut le lendemain avec les symptômes propres à cet alcaloïde.

Myosis exprimé en % sous l'influence de
l'Eserine, de la Nitrocholine et de
l'association Nitrocholine et Laurylsul-
fonate.

- Nitrocholine 0,8%
- - - - - Eserine 1%
- · · · · Eserine 10/100
- Nitrocholine 0,8% + Laurylsulfonate 5/1000
- - - - - Nitrocholine 0,8% + Laurylsulfonate 1/1000
- · · · · Nitrocholine 0,8% + Laurylsulfonate 0,5/1000
- Laurylsulfonate seul (Témoins)



Le lecteur peut constater en suivant ces courbes que:

1. La nitrocholine en solution sursaturée de 0,8% est résorbée par la conjonctive de l'oeil du lapin.
2. La puissance de la solution de nitrocholine à sursaturation donne le même degré de myosis qu'une solution d'Esérine à 1%.
3. La durée d'action de la solution sursaturée de nitrocholine est courte comparativement au long effet myotique de la solution de 1% d'Esérine.
4. Une solution de 5 % de laurylsulfonate de soude instillée dans le cul de sac conjonctival de l'oeil du lapin n'a aucun effet myotique.
5. L'adjonction de laurylsulfonate de soude à des concentrations de 5 % et de 1 % accentue la pénétration d'une solution sursaturée de nitrocholine à travers de la conjonctive de l'oeil du lapin et en prolonge quelque peu l'effet myotique. Une solution de 0,5 % ajoutée par contre à la solution sursaturée de nitrocholine est sans influence significative réelle sur la puissance de ce myotique ni sur la durée de l'effet.

Nous savons que l'Esérine ou le D.H.P. ne sont pas toujours bien supportés en administration chronique par l'oeil. Pour nous assurer que la nitrocholine n'a pas cet inconvénient, nous avons instillé à des lots de 5 cobayes durant 10 jours 2 gouttes de la solution sursaturée de nitrocholine sans que nous ayons pu noter de phénomènes inflammatoires ou congestifs.

On pense que le glaucome chronique ou congestif d'une uvéïte hypertensive est dû à un mécanisme très complexe.

Il semble que les processus d'excrétion et de résorption du segment antérieur de l'oeil y jouent le rôle principal. Les myotiques en provoquant la mise sous tension du muscle irien favoriseraient l'écoulement de l'humeur aqueuse (trabeculum scléral, canal de Schlemm, réseau vasculaire intrascléral, veines aqueuses).

Mais il semble bien que si tel est le mécanisme des substances myotiques, ces phénomènes se doublent d'effets dont l'axe gravite autour de la perméabilité vasculaire et constituent la vraie cause du glaucome.

Deux mécanismes thérapeutiques peuvent dès lors être invoqués, d'une part l'effet mécanique qui suit le myosis et d'autre part un effet hypotenseur qui de la circulation atteindrait les milieux oculaires secondairement. Il faut bien noter que la médication classique du glaucome spéculé sur ces deux éléments.

Or, ces deux axes pharmacodynamiques se retrouvent pour la nitrocholine et l'action de cette substance s'apparentant à une cholinergie physiologique nous prouve son intérêt.

La Pilocarpine qui constitue l'ancien traitement de la crise glaucomateuse a un effet parasymphaticomimétique qui ne touche pas la cholinergie, elle s'attaque directement au muscle irien. L'Esérine par contre, en paralysant les cholinestérases tout comme le D.F.P. se rapproche d'un mécanisme vagal cholinergique quoique, encore ici, il y ait de nombreuses contradictions qui incitent bien des pharmacologues à penser que ces deux substances ont un effet indépendant des cholinestérases, soit un effet vagal propre.

Mais l'oculiste sait également que, soit l'Esérine, soit le D.F.P. peuvent provoquer des spasmes douloureux d'accommodation qui souvent viennent en contre-indiquer l'application, surtout dans les hypertensions d'origine inflammatoire, les deux médicaments peuvent congestionner le segment antérieur de l'oeil et prédisposent le malade aux adhérences.

Il semble donc bien que la nitrocholine serait un médicament utile puisque son action se rapproche le plus de l'hormone vagale et que l'adjonction de laurylsulfonate en favorise encore la pénétration conjonctivale. Mais il faut bien avouer que la brièveté de

l'effet myotique, due à la nitrocholine, semble un inconvénient sérieux pour des malades qui souffrent et devraient recevoir le médicament trop souvent.

Il est fort difficile d'autre part, de trouver une explication pour l'effet potentialisateur qu'exerce le laurylsulfonate de soude. Tout ce que nous en savons c'est que ce produit agit comme "mouillant", il n'est pas, par contre, un solvant de la nitrocholine comme nous avons pu le démontrer. Une autre explication que l'on pourrait évoquer, serait une transformation de laurylsulfonate de soude en perchlorate de soude, et celle du perchlorate de l'ester nitré de choline en laurylsulfonate de ce même ester. Mais cette transformation semble bien improbable.

C o n c l u s i o n s

1. L'ester nitré de choline passe la barrière de la conjonctive de l'oeil du lapin.
2. Son effet myotique est activé par un "mouillant", le laurylsulfonate de soude.
3. Mais la durée de l'effet myotique exercé par la nitrocholine est relativement fugace et ne peut se comparer avec celle de l'Esérine et du D.F.P. cette dernière l'emportant encore sur celle de l'Esérine de ce que nous savons de la littérature. (*)

(*) Des essais cliniques effectués à la Clinique ophtalmologique de Genève ont confirmé que l'effet de la nitrocholine est très inférieur à ceux des myotiques usuels.

B i b l i o g r a p h i e

- 1) FROMMEL, Ed., VINCENT, D., GOLD, Ph., RADOUCO-THOMAS, C., MELHONIAN, D., MEIER, M., DE QUAY, R.M., RADOUCO-THOMAS, C., GLASSON, B., VALLETTE, F., DUCOMMUN, M. et ANDREALIS, P.- Schw. med. Wschr., 85, 791, 1955.
 - 2) DALE, J.- J. Pharmacol., 6, 147, 1914.
 - 3) HUNT, R. et RENTSHAW, R.R.- J. Pharmacol., 25, 315, 1925.
 - 4) KAHANE, E. et LEVY, J.- Bull. Soc. Chim. biol. (Paris), 18, 529, 1936.
 - 5) BARRIERE - Bull. Chim. Fr. 2.470, 1944.
 - 6) FOURNEAU, E., BOVET, D. et BOVET-NITTI, F.- Ann. pharm. franç., 4, 166, 1946.
 - 7) GREBER, G.- Schw. med. Wschr., 85, 796, 1955.
 - 8) FRANCESCHETTI, A. et FROMMEL, Ed. et JUHR, P.- Experimentia. Vol. VII p. 35, 1951.
-

